

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-072653

(43)Date of publication of application : 07.03.2000

(51)Int.Cl.

A61K 7/48

A61K 7/00

(21)Application number : 11-239622

(71)Applicant : SHISEIDO INTERNATL FR SAS

(22)Date of filing : 26.08.1999

(72)Inventor : BELLON PATRICE  
HORNEBECK WILLIAM  
BELLON GEORGES  
BERTON ALIX

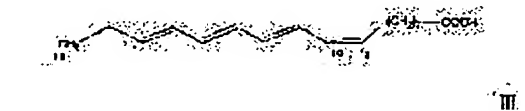
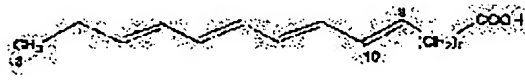
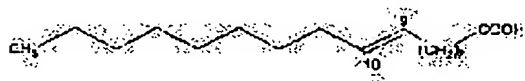
(30)Priority

Priority number : 98 9810823 Priority date : 28.08.1998 Priority country : FR

## (54) USE OF FATTY ACID FOR COSMETIC

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a cosmetic useful as an anti-aging agent by including an unsaturated fatty acid.

SOLUTION: This cosmetic is obtained by including a fatty acid of the formula  $R^3-R-C(R^1)H-C(R^2)H-(CH_2)_5-COOH$  [ $R^1$  and  $R^2$  are H or hydroxyl; R is expressed by the formula  $-CH=C(R^4)-$  ( $R^4$  is H or hydroxyl) or the like;  $R^3$  has a 6-12C fatty acid having 1-4 unsaturated bond(s) which may be ethylenic or acetylenic] (e.g. elaidic acid of formula I, trans-parinaric acid of formula II and cis-parinaric acid of formula III). In this cosmetic, the above fatty acid is included pref. in a content of 0.001-20 wt.%. The above fatty acid inhibits the enzymic activity of matrix metalloproteinase, especially, MMP-1, 2, 9 and leukocytic elastase, therefore, this cosmetic is useful for protecting the cutaneous tissue from these enzymes.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-72653

(P2000-72653A)

(43) 公開日 平成12年3月7日 (2000.3.7)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 K 7/48

A 6 1 K 7/48

7/00

7/00

C

審査請求 未請求 請求項の数9 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願平11-239622

(22) 出願日 平成11年8月26日 (1999.8.26)

(31) 優先権主張番号 9 8 1 0 8 2 3

(32) 優先日 平成10年8月28日 (1998.8.28)

(33) 優先権主張国 フランス (F R)

(71) 出願人 599120303

シセイドー アンテルナショナル フラン  
ス エス. アー. エス.  
フランス国, 75008 パリ, フォーブルグ  
サン-オノレ, 11

(72) 発明者 バトリス ベロン

フランス国, 75013 パリ, アレ デゥ  
パルク ドゥ ショワシー 3

(72) 発明者 ウィリアム ホルンベック

フランス国, 02370 シャセミー, リュ  
ドゥ レグリス, 8

(74) 代理人 100077517

弁理士 石田 敬 (外4名)

最終頁に続く

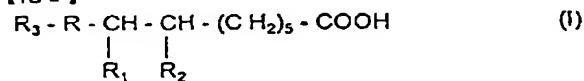
(54) 【発明の名称】 脂肪酸化粧品への使用

(57) 【要約】

【課題】 時間-誘発性及び光-誘発性皮膚老化に関与  
するタンパク質分解酵素活性の阻害に関する。

【解決手段】 下記式 (I) :

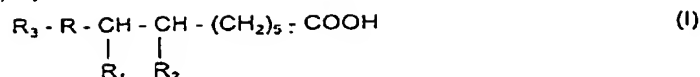
【化1】



〔式中、 $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  は前記に定義された通りである〕で表わされる不飽和脂肪酸又はその塩、及びそれらを含む化粧用組成物に関する。

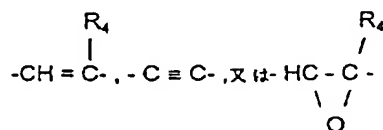
## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記式(I)：



〔式中、R<sub>1</sub> 及びR<sub>2</sub> は同一であっても又は異なっても良く、水素原子又はヒドロキシル基を表わし、Rは、下記基：

## 【化2】

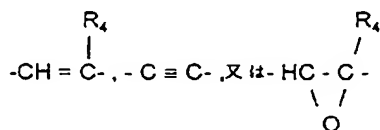


〔式中、R<sub>4</sub> は水素原子又はヒドロキシル基である）を表わし；R<sub>3</sub> は6～12個の炭素原子を有し且つエチレン又はアセチレン性不飽和のいずれかであってもよい※



〔式中、R<sub>1</sub> 及びR<sub>2</sub> は同一であっても又は異なっても良く、水素原子又はヒドロキシル基を表わし、Rは、下記基：

## 【化4】



〔式中、R<sub>4</sub> は水素原子又はヒドロキシル基である）を表わし；R<sub>3</sub> は6～12個の炭素原子を有し且つエチレン又はアセチレン性不飽和のいずれかであってもよい1～4個の不飽和を含む脂肪族基を表わし、位置12における炭素原子がヒドロキシル基により置換されていてもよく、そして位置11と12、及び／又は位置12と13における炭素原子が酸素原子と共に、エポキシ官能基を形成していてもよい〕で表わされる脂肪酸、又は化粧品として許容できる前記脂肪酸の塩、のマトリックスメタロプロテアーゼの酵素活性の阻害、及び／又はマトリックスメタロプロテアーゼからの皮膚組織の保護のためへの使用。

【請求項4】 前記マトリックスメタロプロテアーゼがMMP-1（マトリックスメタロプロテアーゼ1）、MMP-2、MMP-9及び白血球エラスターゼから成ることを特徴とする請求項3記載の使用。

【請求項5】 Rが基-CH=CH-を表わすことを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載の使用。

## \* 【化1】

※～4個の不飽和を含む脂肪族基を表わし、

位置12における炭素原子がヒドロキシル基により置換されていてもよく、そして位置11と12、及び／又は位置12と13における炭素原子が酸素原子と共に、エポキシ官能基を形成していてもよい〕で表わされる脂肪酸、又は化粧品として許容できる前記脂肪酸の塩、の老化の徴候の予防及び／又は処理のための化粧的使用。

【請求項2】 前記老化の徴候が時間一誘発され、又は光一誘発されることを特徴とする請求項1記載の使用。

【請求項3】 下記式(I)：

## 【化3】

【請求項6】 Rがトランスコンホメーションである基-CH=CH-を表わすことを特徴とする請求項5記載の使用。

【請求項7】 前記式(I)に対応する脂肪酸が、エライジン酸、トランス-パリナリン酸及びシス-パリナリン酸から成る群から選択されることを特徴とする請求項1～6のいずれか1項記載の使用。

【請求項8】 前記式(I)に対応する脂肪酸又はその塩の1つが、化粧組成物に含まれることを特徴とする請求項1～7のいずれか1項記載の使用。

【請求項9】 前記組成物が局所用組成物であることを特徴とする請求項8記載の使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗-老化剤としての不飽和脂肪酸又はその塩の使用、及びそのような脂肪酸を含む化粧用組成物に関する。

## 【0002】

【従来の技術】皮膚老化は、皮膚マトリックスの2種の主構成成分、すなわちコラーゲン及びエラスチンの有害的变化により特徴づけられることが知られている。それらの有害的变化は、タンパク質分解酵素、すなわちマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の作用により実質的にもたらされる。

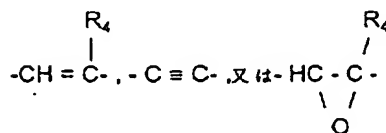
【0003】時間一誘発性老化の場合、2種のマトリックスメタロプロテアーゼ、すなわちMMP-1又はコラーゲナーゼ及びMMP-2又はゼラチナーゼAが関与していることが知られている。それらの2種のメタロプロテ

【0007】遊離基の形成を阻害する抗遊離基化合物は、最ともしばしば、非酵素酸化防止剤である。抗遊離\*



【化6】

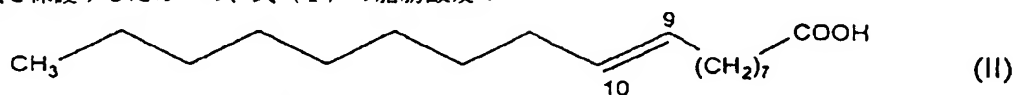
【化5】



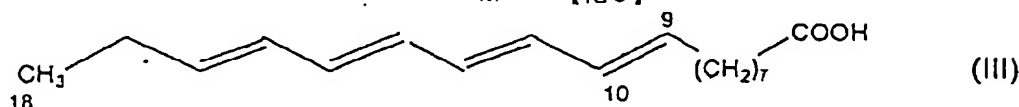
-3-

位置12における炭素原子がヒドロキシル基により置換されていてもよく、そして位置11と12、及び／又は位置12と13における炭素原子が酸素原子と共に、エポキシ官能基を形成してもよい]で表わされる脂肪酸、又は化粧品として許容できる前記脂肪酸の塩、の老化の徴候の予防及び／又は処理のための化粧品への使用に関する。

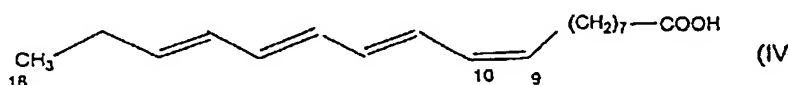
【0015】上記において定義されるような式(I)の脂肪酸及びその塩は、光一又は時間一誘発性老化の徴候を攻撃するために特に有用である。本発明のもう1つの観点によれば、前記発明は、マトリックスメタロプロテアーゼ、特にMMP-1、2及び9、及び白血球エラスターゼの酵素活性を阻害し、そして／又はそれらの酵素から皮膚組織を保護するためへの、式(I)の脂肪酸及\*



【0018】で表わされるエライジン酸；下記式(III)： ※【0019】



【0020】で表わされるトランスーバリナリン酸又はオクタデカテトラ不飽和酸；又は下記式(IV)： ★【0021】



【0022】で表わされるシスーバリナリン酸又はオクタデカテトラ不飽和酸から成る群から選択される。本発明との関係において、トランスーバリナリン酸が特に好ましい。エライジン酸は、化学的合成により又は天然もしくは合成オレイン酸の転換により得られる脂肪酸である。オレイン酸は、エライジン酸のシス異性体に対応する。後者は、UV線により触媒される、シス→トランス異性体化として知られている反応を実施することによって調製され得る。この反応は、当業者に知られている。

【0023】トランス又はシス形におけるバリナリン酸は、化学合成により調製され得る。それはまた、植物油、たとえばバリナリウム (Parinarium) 属の種、そしてより具体的には、バリナリウム・ラウリナム (Parinarium laurinum) (クリソバラナセアエ (Chrisobalanaceae) 科) の植物の種子を圧縮することによって得られるバリナリ油において天然の状態で存在する。それらの植物の種子は約60%のバリナリン酸を含む。

【0024】バルサミナセアエ (Balsaminaceae) 科のインパシエンス・バルサミナ (Impatiens balsamina) の種子の圧縮により得られる油は、約30%のバリナリ

\*び化粧品的に許容できるその塩の使用から成る。

【0016】本発明の好ましい観点によれば、Rは—CH=CH—基を表わす。本発明のもう1つの好ましい観点によれば、R<sub>1</sub> 及びR<sub>2</sub> はそれぞれ水素原子を表わす。本発明のさらにもう1つの好ましい観点によれば、式(I)の脂肪酸は、18個の炭素原子を含む。Rが—CH=CH—基を表わす場合、そのエチレン結合は好ましくは、トランスコンホメーションである。式(I)の脂肪酸の他のエチレン又はアセチレン不飽和は、シス又はトランスのいずれかであり得る。式(I)の脂肪酸は好ましくは、下記式(II)：

【0017】

【化7】

★【0021】

【化9】

ン酸を含むことができる。ロザセアエ (Rosaceae) 科のサクランボの種子 (プルナスセサル (Prunus cerasus)) を圧縮することによって得られる油は、約10%のバリナリン酸を含むことができる。バリナリン酸は、本発明に従って、その使用の観点から、それらの油から抽出され得る。しかし、それらの油はまた、必要なら、抗老化剤として、希釈された後、直接的に使用され得る。

【0025】本発明の脂肪酸の塩は、アンモニウム、アミノ酸、オリゴペプチド又はペプチドのアルカリ金属、たとえばナトリウム又はカリウムの塩から成る。本発明の式(I)の脂肪酸及びその塩が一般的に、化粧品組成物に使用される。前記化粧品組成物は、局所又は経口投与のために適切な医薬形で存在することができる。しかしながら、本発明の組成物は好ましくは、局所用組成物である。前記局所用組成物は通常、少なくとも1つの油相及び少なくとも1つの水相を含んで成るエマルジョンである。

【0026】より特定には、前記エマルジョンは、水中油型 (o/w) 又は油中水型 (w/o) のものであり得る。それらはまた、水中、油中水型 (w/o/w) の複

台エマルジョンでもあり得る。それらはまた、微小エマルジョン又は極微小エマルジョンの形を取ることができる。前記組成物は、ローション、クリーム、ゲル又はゲルクリーム、ボマード、固体スティック、発泡又は噴霧形での溶媒又は脂肪体における懸濁液又は分散液から成る。

【0027】それらの組成物は、組成物の合計重量に基づいて、0.001~20重量%、好ましくは0.5~10重量%の1又は複数の上記脂肪酸又は化粧品として許容できるその塩を含むことができる。式(I)の脂肪酸及び化粧品として許容できるその塩の他に、本発明の化粧品組成物は、1又は複数の次の活性化化合物を含むことができる：

【0028】-抗遊離基剤、たとえばトコフェノール、特にビタミンE、ビタミンC、カロテノイド、フラボノイド、フェノール化合物、糖又は稀元素、たとえばセレン；

-抗グリケーション化合物；

- $\alpha$ -ヒドロキシ酸化合物又は $\beta$ -ヒドロキシ酸化合物；

-硬化又は調色剤、たとえば植物タンパク質、特に大豆又は小麦、アミノ酸に富んでいる藻類の抽出物、又は珪素誘導体；

【0029】-湿潤剤、たとえばヒアルロン酸、キチン又はキトサン、尿素、アミノ酸、乳酸及びその塩、ナトリウムカルボキシレートピロリドン(PCNa)、グリセロール、ソルビトール及び珪素誘導体；

-皮膚のヒドロ脂質フィルムの再構成を助けることができる脂肪体、たとえば必須アミノ酸、リン脂質及び/又はセラミドに富んでいる植物油；

-抗-UVB及びUVA日焼け止め剤、たとえばオクチルメトキシシナメート、ブチルメトキシジベンゾイルメタン、ベンゾフェノン、又は光保護剤無機顔料、たとえば被覆されているか又は被覆されていない二酸化チタン又は酸化亜鉛。

【0030】上記活性化化合物の他に、本発明の組成物はまた、次の従来の化粧品アジュバントを含むことができる：

-脂肪体、たとえば式(I)の脂肪酸以外の脂肪酸、脂肪アルコール、脂肪酸のエステル、植物、無機又は合成油、たとえば揮発又は非揮発性シリコン油、弗素化された又は過弗素化された油；

-有機溶媒、たとえば一価アルコール及びポリオール；

-増粘剤、たとえばポリアクリル酸、ガム、たとえばキサンタンガム、セルロース誘導体；及び

-安定剤、軟化剤、シリコン、香料、保存剤、着色剤、界面活性剤、無機又は有機充填剤、又は噴射剤。

【0031】それらの抗-老化特性の観点において、式(I)の脂肪酸及びその塩、並びにそれらを含む組成物は、顔面又は身体の皮膚の光-又は時間-誘発性老化の

徴候の予防及び/又は処理のために有用である。従って、それらは、皮膚の表面状態及び色調の改良の観点から、抗-しわ剤、トナー、平滑剤、硬化剤として使用され得る。従って、本発明の組成物は、日中における顔面及び身体のための直射日光用組成物として、及び汚染物又は媒煙に対する保護としての夜間用組成物として、スキンケア又はメーキャップ用製品、たとえばファウンデーションの形で使用され得る。

【0032】本発明の組成物は、当業者によく知られている方法に従って調製され得る。本発明の式(I)の脂肪酸及びその塩、並びにそれらを含む化粧用組成物は、マトリックスメタロプロテアーゼ、特にMMP-1, 2、及び9、並びに白血球エラスターゼに対する阻害作用に関連する抗-老化性質を有する。それらはまた、前記酵素から皮膚マトリックスの弾性及びコラーゲン構成成分も保護する。本発明の式(I)の脂肪酸及びその塩は、適度な濃度で抗-老化剤として効果的に使用され得る利点を有する。さらに、それらは、従来技術の抗-老化剤として使用される酸化防止剤のようにブロー酸化しない。本発明の脂肪酸は、皮膚に対して無害であり、そして特に、いづれの刺激又はアレルギー効果も生成しない。

【0033】本発明の脂肪酸は、細胞外マトリックス(コラーゲン及びエラスチン)の高分子の異化と合成との間の回復された平衡性に影響を及ぼすマトリックスメタロプロテアーゼに対する阻害効果を有する。回復されたコラーゲン-エラスチン平衡性は、老化の徴候の低下を認識できるほど可能にする。そのシス及びトランス形でのバリナリン酸は、より特定には、MMP-2及びMMP-9に対する阻害性質を有する。MMP-2及びMMP-9に対する阻害効果は、より特定には、トランス-バリナリン酸に関して顕著である。バリナリン酸により処理された日射皮膚の徴候を示す皮膚は改良された表面外観及び小じわの消失を示すことが注目された。同様に、時間-誘発された老化に関与するMMP-2の阻害のために、年代的老化の徴候を示す皮膚は、その色調及び卓越性を回復する。

【0034】さらに、本発明の式(I)の脂肪酸及びその塩は、細胞外マトリックスの高分子の異化と合成との間の不均衡の出現を回避すると共に、保護効果を付与する。平衡は、コラーゲン及びエラスチンの性質及び量の保存を可能にし、そして老化の徴候の出現の回避を可能にする。より特定には、そのシス及びトランス形でのバリナリン酸、及びエライジン酸は、MMP-9及びMMP-2からコラーゲン及びエラスチン線維を保護する性質を示すことが観察された。MMP-9に対する保護効果は、トランス-バリナリン酸によるよりもエライジン酸による方が高い。MMP-2に対する保護効果は、エライジン酸によるよりもトランス-バリナリン酸による方が高い。シス-バリナリン酸はまた、白血球エラスター

9

ーゼからのエラスチン線維の保護に関して注目に値する性質を示す。

【0035】光-誘発された老化に関与するMMP-9からのコラーゲン及びエラスチンの保護のために、太陽への照射の間、小じわ及びラインの出現が低められる。さらに、光-誘発された老化に関与する白血球エラスターゼからのエラスチンの保護のために、太陽への照射の間、小じわ及びラインの出現は低められる。この後者の保護効果は、シス-バリナリン酸の使用により特に観察される。さらに、時間-誘発された老化に関与するMMP-2からのコラーゲン及びエラスチンの保護のために、皮膚は、時間の経過の間、その表面状態、その色調及び卓越性を保持する。この効果は、より特定には、トランス-バリナリン酸の使用により示された。

【0036】もう1つの観点によれば、本発明はまた、\*

#### 相A

オクチルヒドロキシステアレート	5 g
ポリプロピレングリコール-15ステアリルエーテル	5 g
グリセリルステアレート	2 g
MYRJ 49 <sup>2</sup>	1.8 g
トランス-バリナリン酸	2 g
エライジン酸	1 g
シス-バリナリン酸	1 g
パラベン	十分な量

【0038】

#### 相B

水	十分な量
グリセロール	3 g
ブチレングリコール	2 g
アジュバント (BHT (ブチルヒドロキシトルエン) 保存剤、着色剤、EDTA)	十分な量

#### 相C

SEPIGEL 305 (登録商標) <sup>1</sup>	2 g
---------------------------------	-----

【0039】

#### 相D

香料	十分な量
----	------

1. SEPPICにより市販されるゲル化剤

2. ICIにより市販される乳化剤

相Aを80℃に加熱する。相Bを80℃に加熱する。相Aを相Bに導入し、そして攪拌しながら、45℃に冷却する。相Cを添加し、続いて相Dを添加する。

#### 相A

MONTANOV (登録商標) 68 <sup>1</sup>	5 g
トランス-バリナリン酸	5 g
イソステアリルイソステアレート	3 g
DOW CORNING 556 <sup>2</sup>	3 g
ステアリルヘプタノエート及びステアリルカプリレート	3 g
パラベン	十分な量

【0041】

#### 相B

10

\*トランス-バリナリン酸、シス-バリナリン酸、エライジン酸、及び化粧品的に許容できるそれらの塩から成る群から選択された少なくとも1つの活性化化合物を含んで成る化粧用組成物にも関する。それらの組成物は、上記のような使用のために適切である。上記に言及された活性化化合物の他に、そのような組成物は、他の活性化化合物、及び化粧用組成物のための従来の賦形剤、たとえば上記に記載されるものを含むことができる。本発明の組成物は、任意には、従来の加熱の後、1又は複数の操作でそれらの構成成分を混合することによって調製され得る。次の例は、本発明を例示するものである。

【0037】

【実施例】例1：o/wエマルジョンの形での抗-しわ用デイクリーム

このクリームは次の通りにして得られる：

例2：o/wの形での眼のための抗-しわ用輪郭クリー

ム

このクリームは次の通りにして得られる：

【0040】



11

水  
キサンタンガム

相C

アジュバント (BHT、保存剤、着色剤、EDTA)  
大豆タンパク質  
ビタミンEアセテート香料  
香料

12

十分な量  
0.3 g

十分な量  
2 g  
0.1 g  
十分な量

1. SEPPICにより市販される乳化剤

\*する。相Cを添加する。

2. DOW CORNINGにより市販されるシリコーン油

【0042】例3: o/wエマルジョンの形でのサンロ

相Aを80℃に加熱する。相Bを80℃に加熱する。相 10

ーション

Bを相Aに導入し、そして攪拌しながら、45℃に冷却\*

このーションは次の通りにして得られる:

相A

オクチルメトキシシナメート  
ジメチコーン  
シスーバリナリン酸  
エライジン酸  
鉱油  
BRIJ 721<sup>2</sup>  
ARLATONE 983S<sup>3</sup>

5 g  
3 g  
2.5 g  
2.5 g  
2 g  
1.5 g  
1.5 g

【0043】

20

相B

水  
グリセロール  
ブチレングリコール  
アジュバント (BHT、保存剤、着色剤、EDTA)

十分な量  
5 g  
4 g  
十分な量

相CSEPIGEL (登録商標) 305<sup>1</sup>

5 g

【0044】

相D

香料

十分な量

1. SEPPICにより市販されるゲル化剤

\*する。相Cを添加し、続いて相Dを添加する。

2. ICIにより市販される乳化剤

【0045】例4: w/oエマルジョンの形での直射日

3. ICIにより市販される乳化剤

光後修復ゲルークリーム (油相としてシリコーンを有する)

相Aを80℃に加熱する。相Bを80℃に加熱する。相

Bを相Aに導入し、そして攪拌しながら、45℃に冷却\*

このゲルークリームは次の通りにして得られる:

相A

DOW CORNING 3225C<sup>1</sup>  
DOW CORNING 345<sup>2</sup>  
トランスーバリナリン酸  
香料

12 g  
5 g  
5 g  
十分な量

【0046】

相B

水  
ブチレングリコール  
グリセロール  
エチルアルコール

十分な量  
25 g  
6 g  
5 g

アジュバント (BHT、保存剤、着色剤、MgCl<sub>2</sub>)

十分な量

1. DOW CORNINGにより市販される乳化剤

る。相Bを相Aに導入する。

2. DOW CORNINGにより市販されるシリコーン油

【0047】例5: 種々のマトリックスメタロプロテア

相Aの成分を80℃で混合する。相Bの成分を混合す

50

ーゼに対する本発明の脂肪酸の阻害効果を示した。この

目的のために、それらのMMPの酵素活性を、蛍光合成基質（7-メトキシマリニン-4-イル）アセチル-P<sub>ro</sub>-Leu-Gly-Leu-（3-[2, 4-ジニトロフェニル]-L-2, 3-ジアミノプロピオニル）-Ala-ArgNH<sub>2</sub>を用いて決定した。MMPは、特定の態様において、基質のアミノ酸Gly及びLeuを結合するアミド結合を分解することができる。

【0048】加水分解は、選択された波長で分光蛍光測定器の助けによりモニターされ、そして定量化され得る\*

表 1

MMPs	普通名	Kiエライジン酸 ( $\mu$ M)	Kiバリナリン酸 ( $\mu$ M)	
			シス	トランス
MMP-1	間質コラゲナーゼ	2.7	nd	nd
MMP-2	ゲラチナーゼ A	4.25	8	24
MMP-3	ストロメリシン-1	1.8	nd	nd
MMP-9	ゲラチナーゼ B	5.8	14	1.9

nd: 測定されなかった。

得られる結果は、試験された本発明の脂肪酸がMMPを効果的に阻害できることを示す。

【0050】例6: 抗-老化剤としての本発明の脂肪酸の有効性のエクスービオ試験を実施した。

#### 1) 方法

エクスービオ試験を、生後10~24カ月の幼児の包皮から採取されたヒト皮膚の切片に対して行なった。使用される切片は一括して、8 $\mu$ mの厚さの切片で凍結された。酵素活性に対する阻害効果を次の態様で決定した: 試験される酵素は次の通りであった: MMP-2, MMP-9又は白血球エラスターゼ。その活性化された形での酵素を、種々の濃度の本発明の脂肪酸と共に15分間インキュベートし、次に、酵素及びインヒビターを含む前記溶液をヒト皮膚の切片上に配置し、そして湿潤雰囲気下で37℃で4~18時間インキュベートした。

【0051】インキュベーションの最後で、切片を特定の染料により染色した。エラスチンの染料は、+カテキンであり、そしてコラーゲン線維の染料はシリウス (Sirius) レッドである。細胞外マトリックスに対する陽性効果を次の態様で決定した: 皮膚切片を担持するスライドを、所望する濃度で本発明の脂肪酸を含む純粋エタノールにおいて4時間、軽く攪拌しながら、インキュベートした。次に、その切片をすすぎ、そして乾燥せしめた。次に、酵素を切片上に配置し、スライドを湿潤雰囲気下で4~18時間、37℃でインキュベートした。インキュベーションの最後で、スライドを、上記エラスチン又はコラーゲン線維の特定の染料により染色した。

【0052】得られる結果を、次の定量化原則に従って決定した: エラスチン線維を、+カテキンにより特定の

\* 蛍光の適切な上昇に付随する。Gly-Leu結合の分解に続いて、ジニトロフェニル基はもはや、7-メトキシマリニン基の蛍光をマスクすることができない。MMP-2及びMMP-9によるこの基質の加水分解を、種々の濃度の本発明の脂肪酸の存在又は不在下で実施した。従って、酵素活性の阻害定数 (Ki) を決定できた。得られる結果は下記表1に示される。

【0049】

【表1】

態様において染色し、そして正確且つ自動化された形態測定システムにより定量化した。スライドをカメラを備え付けられた顕微鏡下で観察した。得られる像を、研究されるべき構成成分に対応するグレーレベルに転換した。それらの要素に対応しない最小粒子は分析から排除された。特定のプログラムを用いれば、線維により占有される相対的表面積を計算することが可能であった。エラスチン線維に関しては、それらの長さはそれらの幅よりも大きいので、前記面積及びまた、前記線維により占有される容積を計算することが可能であった。コラーゲン線維束により占有される面積を前記と同じ方法により定量化できた。

#### 【0053】2) 結果

##### 2. 1) 酵素活性の阻害

コラーゲン線維に対するMMP-2のタンパク質分解活性を研究した。MMP-2が皮膚切片に添加される場合、コラーゲン線維束の加水分解が観察され、前記線維の密度及び数は低くなる。さらに、表皮を剥離した。加水分解度は約34%であった。酵素が1 $\mu$ Mのトランス-バリナリン酸と共にプレインキュベートされる場合、加水分解は低められ、基部膜がわずかに剥離するようになった。

【0054】10 $\mu$ Mのトランス-バリナリン酸に関しては、加水分解は適切に低められ、コラーゲン線維束は十分に組織化され、基部膜はもはや、剥離しなくなった。比較すると、10 $\mu$ Mのシス-バリナリン酸と共にMMP-2のプレインキュベーションは、酵素活性をより低い程度まで阻害した。異なった処置の機能としてのコラーゲン線維束の加水分解を、定量化し、そして%阻害率を下記表2に決定した:

【0055】

【表2】

表 2

脂 肪 酸	トランス-パリナリン酸		シス-パリナリン酸	
濃 度	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
%阻害率	12	56	18	40

【0056】MMP-9の場合、エラスチン線維の加水分解を研究した。実際、MMP-2と異なって、MMP-9は、実質的に、現場エラスチン分解活性を有する。10 中間真皮の成熟エラスチン線維の場合、MMP-9による加水分解が観察された。このエラスチン線維は短かく、そして束においては、長く、且つ十分に個々に区別される。加水分解率は約35%であった。酵素MMP-9と共にブレインキュベートされたトランス-パリナリン\*

\*ン酸は、そのMMP-9の活性を阻害した。この阻害は、パリナリン酸のシス異性体によっても再び見出される。異なった処置の機能としてのMMP-9によるエラスチン線維の加水分解を定量化することによって、その酵素活性の%阻害率を決定することが可能である。得られる結果は、下記表3に示される。

【0057】

【表3】

表 3

脂 肪 酸	トランス-パリナリン酸		シス-パリナリン酸	
濃 度	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
%阻害率	16	48	10	24

それらの実験は3~5回、くり返えされた。観察される差異は、統計学的に有意であった。

【0058】2. 2) MMP及び白血球エラスターゼの活性からのエラスチン及びコラーゲン線維の保護。

あらかじめ、トランス-パリナリン酸と共にインキュベートされ、そして酵素MMP-2と接触せしめられた切片は、コラーゲン線維束の適切に低い明白な加水分解を示したことが観察された。その線維束は、より集密的 ※

※で、厚くそれらの末端はほとんど、ほつれておらず、その網状構造はより集密的に見えた。同じ観察が、エラスチン及びコラーゲン線維がエライジン酸により保護される場合に行なわれた。線維を定量化することによって、下記表4に示される結果を得た：

【0059】

【表4】

表 4

脂 肪 酸	エライジン酸10 $\mu$ M	トランス-パリナリン酸10 $\mu$ M
%保護率	32	61

【0060】切片がエライジン酸と共に前もってインキュベートされる場合、MMP-9による中間真皮の成熟エラスチン線維の加水分解は適切に低められた。エラスチン及びコラーゲン線維がトランス-パリナリン酸により保護される場合、真皮に近い皮相のブレイエラスチン★

★線維の加水分解は低められた。得られる結果は、下記表5に示される。

【0061】

【表5】

表 5

脂 肪 酸	エライジン酸10 $\mu$ M	トランス-パリナリン酸10 $\mu$ M
%保護率	98	75

【0062】白血球エラスターゼが、特にUV線への照射の後、対照として、エラスチン網状構造の現場分解性についてのみならず、また、インビボでのエラスチンの分解へのその関連性について研究された。従って、シス

ーパリナリン酸との切片のブレインキュベーションが、エラスターゼによるエラスチン線維の分解に対して保護することが観察された。その保護率は58%であった。

## 【手続補正書】

【提出日】平成11年11月11日（1999. 11. 11）

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

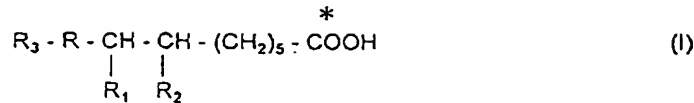
【補正方法】変更

## \*【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記式（I）：

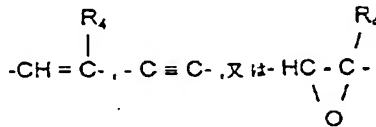
【化1】



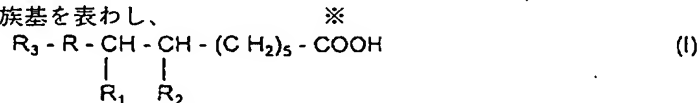
〔式中、R<sub>1</sub> 及びR<sub>2</sub> は同一であっても又は異なっても良く、水素原子又はヒドロキシル基を表わし、

Rは、下記基：

【化2】



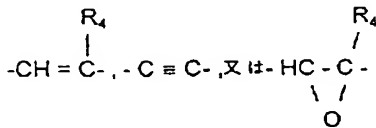
〔式中、R<sub>4</sub> は水素原子又はヒドロキシル基である）を表わし；R<sub>3</sub> は6～12個の炭素原子を有し且つエチレン又はアセチレン性不飽和のいずれかであってもよい1～4個の不飽和を含む脂肪族基を表わし、



〔式中、R<sub>1</sub> 及びR<sub>2</sub> は同一であっても又は異なっても良く、水素原子又はヒドロキシル基を表わし、

Rは、下記基：

【化4】



〔式中、R<sub>4</sub> は水素原子又はヒドロキシル基である）を表わし；R<sub>3</sub> は6～12個の炭素原子を有し且つエチレン又はアセチレン性不飽和のいずれかであってもよい1～4個の不飽和を含む脂肪族基を表わし、

位置12における炭素原子がヒドロキシル基により置換されていてもよく、そして位置11と12、及び／又は位置12と13における炭素原子が酸素原子と共に、エポキシ官能基を形成していてもよい〕で表わされる脂肪酸、又は化粧品として許容できる前記脂肪酸の塩を含んで成る、マトリックスメタロプロテアーゼの酵素活性の

※位置12における炭素原子がヒドロキシル基により置換されていてもよく、そして位置11と12、及び／又は位置12と13における炭素原子が酸素原子と共に、エポキシ官能基を形成していてもよい〕で表わされる脂肪酸、又は化粧品として許容できる前記脂肪酸の塩を含んで成る、老化の徴候の予防及び／又は処理のための化粧品。

【請求項2】 前記老化の徴候が時間一誘発され、又は光一誘発されることを特徴とする請求項1記載の化粧品。

【請求項3】 下記式（I）：

【化3】

阻害、及び／又はマトリックスメタロプロテアーゼからの皮膚組織の保護のための化粧品。

【請求項4】 前記マトリックスメタロプロテアーゼがMMP-1（マトリックスメタロプロテアーゼ1）、MMP-2、MMP-9及び白血球エラスターゼから成ることを特徴とする請求項3記載の化粧品。

【請求項5】 Rが基-CH=CH-を表わすことを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載の化粧品。

【請求項6】 Rがトランスコンホメーションである基-CH=CH-を表わすことを特徴とする請求項5記載の化粧品。

【請求項7】 前記式（I）に対応する脂肪酸が、エライジン酸、トランス-パリナリン酸及びシス-パリナリン酸から成る群から選択されることを特徴とする請求項1～6のいずれか1項記載の化粧品。

【請求項8】 前記式（I）に対応する脂肪酸又はその塩の1つが、化粧品組成物に含まれることを特徴とする請求項1～7のいずれか1項記載の化粧品。

【請求項9】 前記組成物が局所用組成物であることを特徴とする請求項8記載の化粧品。

フロントページの続き

(72)発明者 ジョルジュ ベロン  
フランス国, 51100 レイム, クードロン,  
リュ アルレット レミア, 28

(72)発明者 アリックス ベルトン  
フランス国, 51100 レイム, クール ジ  
ェペー ラングレ, 33